

**DOSAGE DE LA CITRATEMIE
DANS LES CANCERS AVEC METASTASES OSSEUSES**

THESE

présentée à la faculté de médecine de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de docteur en médecine

par

Jean-Claude SCHIRA

de

THONEX (Genève)

Thèse No 3663

GENEVE

Editions Médecine et Hygiène

1978



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545917_0032

**DOSAGE DE LA CITRATEMIE
DANS LES CANCERS AVEC METASTASES OSSEUSES**

THESE

présentée à la faculté de médecine de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de docteur en médecine

par

Jean-Claude SCHIRA

de

THONEX (Genève)

Thèse No 3663

GENEVE
Editions Médecine et Hygiène
1978

La Faculté de médecine, sur le préavis du professeur Bernard Courvoisier, autorise l'impression de la présente thèse, sans prétendre par là émettre d'opinion sur les propositions qui y sont énoncées.

Genève, le 5 avril 1978

Le Vice-Doyen :
André Cruchaud

Thèse No 3663



Nous prions Monsieur le Professeur B. Courvoisier, Directeur de la Clinique médicale thérapeutique, de trouver ici l'expression de notre reconnaissance pour la bienveillance qu'il nous a toujours témoignée.

Nous remercions de leur fidèle collaboration :

Monsieur le Docteur B. Garcia, médecin-adjoint à la Clinique médicale thérapeutique.

Monsieur D. Depierre, chef du laboratoire du Centre d'étude des maladies osseuses.

Mesdames C. Duret et F. Mezin, laborantines.

Nous remercions aussi la Fondation Malcotti pour son aide.

RESUME

La citratémie a été dosée chez 49 malades atteints de cancer avec ou sans métastases osseuses et chez 53 sujets sains. Elle est significativement plus élevée ($p < 0,001$) chez les malades atteints de cancer avec métastases osseuses que chez les sujets sains et que chez les malades atteints de cancer sans métastases osseuses. Chez les sujets sains, la citratémie est plus élevée en été qu'en hiver et plus élevée chez les sujets âgés que chez les jeunes. L'intérêt théorique et pratique de ces observations est discuté.

INTRODUCTION

Le citrate ou acide citrique contenu dans l'organisme humain a une double origine, exogène et endogène. Le citrate exogène, de peu d'importance quantitative, se trouve essentiellement dans les agrumes et le lait. Le 10% seulement de la quantité ingérée est absorbé au niveau des cellules pariétales de l'intestin grêle (1). La citratémie n'est donc pratiquement pas influencée par la concentration d'acide citrique des aliments, mais celui-ci favoriserait l'absorption intestinale de calcium (2,3). Le citrate endogène, quantitativement important (4), est un produit du cycle de Krebs ou cycle de l'acide citrique (5).

Le métabolisme intermédiaire de l'acide citrique intéresse 3 organes. L'os est considéré comme le tissu le plus important, vu sa teneur élevée en citrate (6,7) ; l'élimination de cet acide faible se fait en partie par le foie (8), mais surtout par voie rénale (9,10,11), où il passe dans l'urine par filtration glomérulaire et est partiellement réabsorbé au niveau du tube proximal (12).

Le rôle important que joue le citrate dans le métabolisme osseux est suggéré par le fait que le 90% du citrate total de l'organisme se trouve dans l'os (13). Neumann (14) a postulé l'existence, dans les liquides intersticiels osseux sursaturés en calcium et phosphore, d'un mécanisme solubilisateur qui éviterait une acrétion continue du cristal d'hydroxy-apatite. Ce processus de solubilisation est vraisemblablement dû à la production locale, par les cellules osseuses, d'acides organiques, acide citrique notamment (14, 15, 16, 17, 18). La solubilité de l'hydroxy-apatite augmente en effet en milieu acide (19). La résorption osseuse s'accompagnerait donc d'une augmentation locale d'acide citrique entraînant une élévation de la citratémie

qui constituerait dès lors le reflet de cette activité résorptive (20, 21). L'hypercitratémie, documentée chez certains porteurs de cancer (22), pourrait traduire l'existence de métastases osseuses ostéolytiques. Une telle hypothèse a été évoquée dans des études intéressant des patients cancéreux (22, 23), mais aucun de ces travaux ne comporte des groupes de patients ayant l'os pour seul organe métastasié.

Le but de cette étude est de déterminer dans quelle mesure le taux de citrate plasmatique est élevé chez des patients porteurs de métastases osseuses et d'établir d'éventuelles corrélations entre la citratémie, les autres paramètres biologiques du métabolisme phospho-calcique et la clinique.

MALADES ET METHODES

Trois groupes de sujets ont été étudiés.

Groupe 1 : groupe contrôle " hiver " : 53 sujets sains étudiés au cours de la période hivernale (octobre-novembre 1976) ; 23 hommes et 30 femmes ; âge moyen pour l'ensemble du groupe : 58 ans (extrêmes 24 à 89 ans) ; âge moyen pour les femmes de ce groupe : 60 ans (extrêmes 24 à 89 ans). Les critères d'admission dans ce groupe sont l'absence d'évidence clinique ou para-clinique de cancer, d'affection ostéo-articulaire, d'insuffisance rénale ou hépatique et l'existence de paramètres phospho-calciques dans les limites normales.

Groupe 2 : groupe contrôle " été " : 23 sujets sains étudiés durant la période d'été (juillet-août 1977) ; 7 hommes et 16 femmes ; âge moyen 36 ans (extrêmes 22 à 64 ans). Les critères d'admission sont identiques à ceux du groupe précédent.

Groupe 3 : 49 sujets porteurs de cancer, 23 hommes et 26 femmes, étudiés au cours de la période hivernale ; âge moyen 65 ans (extrêmes 42 à 86 ans). Les critères d'admission sont les suivants : évidence clinique ou para-clinique d'un cancer, absence de signes biologiques d'insuffisance rénale ou hépatique. Aucun sujet n'a reçu de traitement anti-mitotique ou hormonal. Ces 49 sujets sont répartis en 2 sous-groupes :

- 3a) 21 sujets d'âge moyen de 65 ans (extrêmes 45 à 83 ans), dont 14 femmes d'âge moyen de 62 ans (extrêmes 45 à 78 ans) atteintes de cancer du sein. Chez tous ces sujets, l'existence de métastases osseuses a été confirmée par l'examen radiologique ou scintigraphique.
- 3b) 28 sujets d'âge moyen de 65 ans (extrêmes 42 à 86 ans),

dont 9 femmes d'âge moyen de 59 ans (extrêmes 42 à 85 ans) atteintes de cancer du sein. Chez aucun de ces sujets, l'existence de métastases osseuses n'a été mise en évidence par les examens cliniques, biologiques, radiologiques ou scintigraphiques.

Chez chaque sujet, 10 ml de sang ont été prélevés sans stase veineuse sur des tubes contenant 100 U d'héparinate d'ammonium. L'échantillon a été déposé immédiatement sur de la glace, puis centrifugé à 4°. Le citrate plasmatique a été dosé selon la méthode décrite par Zender (24), mais en utilisant un "kit" (No 139076, Boehringer Mannheim GMBH). Trois ml de plasma permettent une détermination à double et d'un "blanc" par analyse. Le calcul des concentrations est obtenu à l'aide d'un étalon d'acide citrique à 25 mg/l (Merck No 244, Basel), selon l'équation suivante :

$$C \text{ citrate plasmatique} = \frac{\Delta E \text{ échantillon} \times C \text{ étalon}}{\Delta E \text{ étalon}}$$

C = concentration en mg/l

E = différence de densité optique.

Le coefficient de variation intra-essai de la méthode est de 2,48% (n = 8). La stabilité du citrate plasmatique a été démontrée jusqu'à 16 jours de stockage des échantillons à - 20°. Le calcium plasmatique a été dosé par absorption atomique au chlorure de lanthane, le phosphore par la réaction au phospho-molybdate, la phosphatase alcaline par une méthode colorimétrique utilisant le para-nitrophényl-phosphate en présence de ions Mg^{++} à 37°, l'azote uréique et la créatinine plasmatique par "autoanalyser", la bilirubine totale par la méthode diazo, les transaminases (SGOT, SGPT) par la méthode de Henry modifiée. L'analyse statis-

tique des moyennes des paramètres considérés a été réalisée à l'aide du test " t " de Student et les coefficients de corrélation déterminés par la méthode des moindres carrés.

RESULTATS

Dans le groupe contrôle étudié en hiver (groupe 1), comprenant 53 sujets, le taux moyen de citrate plasmatique est de $17,49 \pm$ DS $4,01$ mg/l ; les valeurs extrêmes, en tenant compte de 2 DS, étant de $9,47$ à $25,61$ mg/l (figure 1). Dans le groupe contrôle étudié en été (groupe 2), comprenant 23 sujets, la citratémie moyenne est de $20,15 \pm$ DS $4,14$ mg/l ; les valeurs extrêmes, en tenant compte de 2 DS étant de $11,87$ à $28,43$ mg/l. Le taux moyen de citrate plasmatique du groupe 2, étudié en été, est significativement plus élevé ($p < 0,01$) que celui du groupe 1 étudié au cours de l'hiver (figure 2). En considérant la répartition des sujets normaux du groupe 1 en classe d'âge (figure 3), le taux moyen de citrate plasmatique des sujets jeunes apparaît significativement plus bas ($p < 0,05$) que celui des individus âgés. La valeur moyenne de la citratémie n'est pas influencée par le sexe chez les sujets normaux ($p > 0,8$ et $p > 0,2$ respectivement dans les groupes 1 et 2).

Concernant les patients du groupe 3, porteurs d'un carcinome et examinés en hiver, les résultats sont les suivants : dans le sous-groupe 3a) de 21 sujets porteurs de cancer de tous types avec métastases osseuses prouvées, le taux moyen de citrate plasmatique est de $24,8 \pm$ DS $7,6$ mg/l ; ce taux est significativement élevé par rapport au groupe contrôle "hiver" ($p < 0,001$, figure 1) et par rapport au sous-groupe 3b) de sujets porteurs de cancer sans métastases osseuses ($p < 0,001$). 8 cas sur 21 (38%) ont un taux de citrate élevé ($\geq$ valeur moyenne + 2 DS), dans 7 de ces cas (88%) il s'agit de métastases osseuses de cancer du sein ; le calcium plasmatique est élevé dans 2 cas sur 8 (25%), et la phosphatase alcaline dans 6 cas (75%). Dans 13 cas sur 21 (62%), le citrate plasmatique est dans

les limites normales (valeur moyenne ± 2 DS) ; sur ces 13 cas on retrouve 7 cancers du sein, 3 cancers bronchiques, 1 cancer rénal, 1 cancer oesophagien et 1 cas de double cancer (tableau III).

Dans les sous-groupes 3b) de 28 sujets porteurs de cancers de tous types sans métastases osseuses prouvées, le taux moyen de citrate plasmatique est de $16,8 \pm$ DS 6,8 mg/l. Ce taux n'est pas significativement différent de celui du groupe contrôle " hiver " (groupe 1). Deux cas seulement sur 28 (7%), dont un cancer à point de départ multiple, ont un taux élevé de citrate. Dans 26 cas sur 28 (92%), le taux est dans les limites normales (valeur moyenne ± 2 DS). Le siège du cancer primitif est très variable ; on y dénombre 10 cas de cancer du sein (tableau III) La calcémie est normale dans les 28 cas, la phosphatase alcaline élevée dans 5 cas, dont 3 présentent des métastases hépatiques prouvées mais sans signes biologiques d'insuffisance hépatique.

Chez les 30 femmes saines du groupe contrôle " hiver " (groupe 1), le taux de citrate plasmatique est de $17,4 \pm$ DS 4,4 mg/l. Les 14 femmes porteuses de cancer du sein avec métastases osseuses du groupe 3a) ont un taux moyen de citrate plasmatique de $26,6 \pm$ DS 7,8 mg/l ; ce taux est significativement élevé aussi bien par rapport à celui des femmes normales du groupe 1 ($p < 0,001$) que par rapport à celui des 9 femmes porteuses de cancer mammaire sans métastases osseuses du sous-groupe 3b) ($p < 0,005$). Il n'y a pas de différence significative entre ces 9 patientes porteuses de cancer du sein sans métastases osseuses du groupe 3b) et les femmes normales du groupe contrôle " hiver ", groupe 1 ($p > 0,04$).

DISCUSSION

Cette étude met en évidence une élévation significative de la citratémie dans un groupe de sujets porteurs de métastases osseuses de cancers divers, du sein notamment, comparé soit à un groupe de sujets normaux, soit à un groupe de cancéreux sans métastases osseuses décelables. Cette élévation résulte probablement de l'ostéolyse tumorale, la colonisation osseuse par des cellules néoplasiques entraînant une libération du citrate osseux (22, 23). L'absence de corrélation entre ce paramètre et le taux plasmatique de la phosphatase alcaline s'explique par le fait que l'élévation de la phosphatase alcaline plasmatique d'origine osseuse correspond à l'augmentation de l'activité ostéoblastique.

Compte tenu du chevauchement important observé entre les sujets porteurs et les sujets non porteurs de métastases osseuses, ces observations ne sont applicables qu'à l'étude de groupes et ne peuvent se rapporter à des cas isolés.

Ce paramètre nous semble néanmoins pouvoir être inclus dans les études multifactorielles des métastases osseuses. Une telle étude, comprenant une série de dosages biologiques (calcémie, phosphatémie, phosphatase alcaline plasmatique, hydroxyprolinémie, hydroxyprolinurie, hydroxylysineurie, etc...) ainsi que la scintigraphie osseuse, est actuellement en cours dans notre groupe.

Le taux de citratémie est significativement plus élevé chez les sujets âgés que chez les jeunes (tout en restant dans les limites normales). Cette légère élévation est peut-être en rapport avec l'ostéopénie des sujets âgés, qui est l'effet d'un déséquilibre entre l'apposition et la résorption osseuse au profit de cette dernière et dont

une des causes semble être un abaissement du taux circulant des métabolites de la vitamine D (25-OH D) (25) et une diminution de l'absorption intestinale de calcium dans le troisième âge (26).

Quant aux variations saisonnières de la citratémie (plus élevée en été qu'en hiver), il n'est pas possible de préciser dans quelle mesure elles sont en relation avec celles du taux plasmatique de la vitamine D (25-OH D) (27) et (ou) résultent de l'augmentation de la consommation de fruits et légumes durant l'été (28); ce dernier facteur est mis en doute par les travaux qui tendent à démontrer une indépendance du taux de citrate circulant par rapport à la quantité ingérée (2,3).

En conclusion, ces observations tendent à démontrer l'utilité d'inclure le dosage de la citratémie dans les études multifactorielles des métastases osseuses. Elles suggèrent par ailleurs que ce paramètre subit des variations parallèles à celles du métabolisme minéral et osseux dans son rythme saisonnier et aussi dans le vieillissement de l'individu.

Tableau I : Citrate, calcium, phosphatase alcaline plasmatiques dans le groupe de cancers de tous types avec métastases osseuses (groupe 3a) et dans le groupe de cancers de tous types sans métastases osseuses prouvées (groupe 3b).
Valeur moyenne $\pm$ déviation standard.
(* = NS, ** = $p < 0,025$).

	Sexe	n	Citrate (mg/l)	Calcium (mg/l)	Phosphatase alcaline (UI/l)
G 3a	M	6	19,4 $\pm$ 4,5 * *	101,5 $\pm$ 17,7 *	160,3 $\pm$ 181,1 *
	F	15	26,9 $\pm$ 7,6	103,6 $\pm$ 20,0	112,6 $\pm$ 100,3
	Total	21	24,8 $\pm$ 7,6	103,0 $\pm$ 18,9	126,2 $\pm$ 125,4
G 3b	M	17	15,8 $\pm$ 5,5 *	94,6 $\pm$ 6,3 *	51,5 $\pm$ 32,2 *
	F		18,3 $\pm$ 8,7	97,4 $\pm$ 4,4	36,6 $\pm$ 15,2
	Total	28	16,8 $\pm$ 6,8	95,8 $\pm$ 5,7	45,6 $\pm$ 27,5

Tableau II : Citrate, calcium et phosphatase alcaline plasmatiques chez les femmes du groupe contrôle "hiver" (groupe I) et chez les femmes du groupe 3 porteuses de cancer du sein avec (M +) et sans (M -) métastases osseuses.
Valeur moyenne $\pm$ déviation standard.

	n	Citrate (mg/l)	Calcium (mg/l)	Phosphatase alcaline (UI/l)
Contrôle	30	17,4 $\pm$ 4,4	93,8 $\pm$ 4,7	31,3 $\pm$ 7,7
M +	14	26,6 $\pm$ 7,8	103,4 $\pm$ 20,7	117,6 $\pm$ 102,2
M -	9	15,9 $\pm$ 4,8	98,0 $\pm$ 4,4	37,8 $\pm$ 16,7

Tableau III : Siège du cancer primitif dans le groupe de sujets porteurs de cancers de tous types avec (groupe 3a) et sans (groupe 3b) métastases osseuses.

	Poumons	Sein	Prostate	Rein et vessie	Oesophage et intestin	Côlon	Utérus	Autre
Groupe 3a)	3	14	1	1	1	1		
Groupe 3b)	8	9	2	3	5	2	1	1
Total	11	23	3	4	6	3	1	1

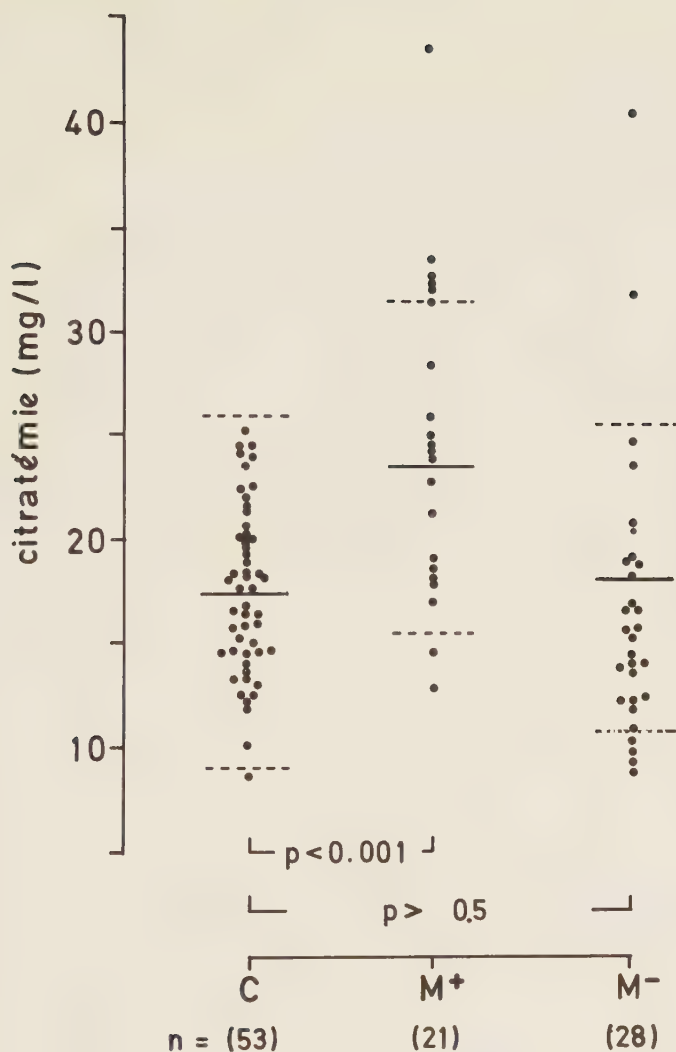


Fig. 1: Taux plasmatique de citrate en mg/l.

C = groupe contrôle "hiver" (groupe 1).

M⁺ = groupe de sujets étudiés en hiver et porteurs de cancers de tous types avec métastases osseuses (groupe 3 a).

M⁻ = groupe de sujets étudiés en hiver et porteurs de cancers de tous types sans métastases osseuses prouvées (groupe 3 b).

Taux moyen (—) $\pm$ 2 déviations standards (---).

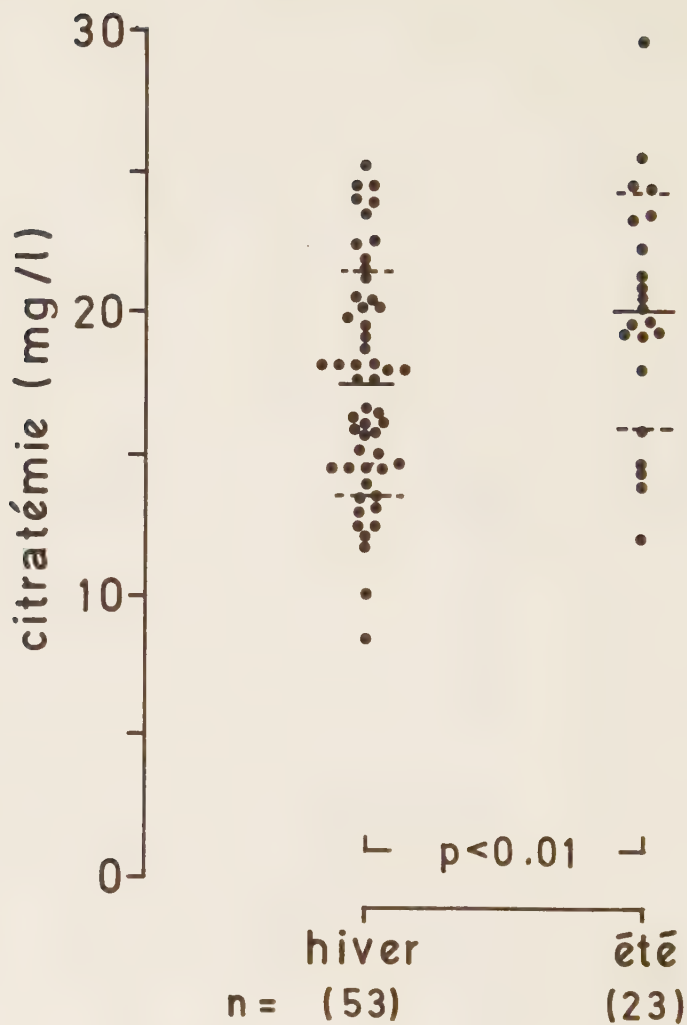


Fig. 2: Taux plasmatique de citrate en mg/l.
Groupe contrôle "hiver" (groupe 1) et "été"
(groupe 2).

Taux moyen (—) ± 1 déviation standard (---).

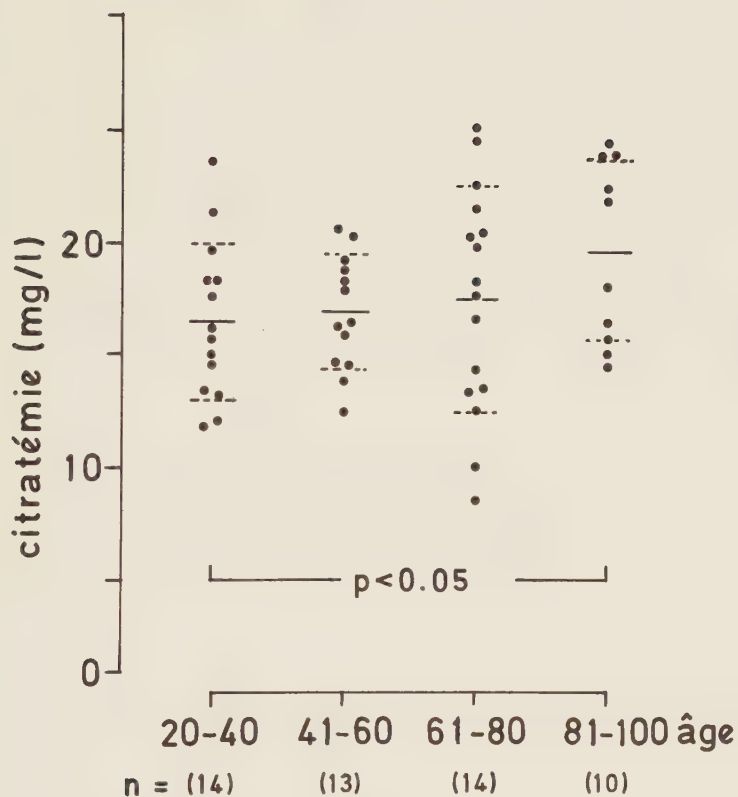


Fig. 3: Taux plasmatique de citrate en mg/l. Groupe contrôle "hiver" (groupe 1): tranches d'âge de 20 à 40 ans, de 41 à 60 ans, de 61 à 80 ans et de 81 à 100 ans. Taux moyen (—) $\pm$ 1 déviation standard (---)

BIBLIOGRAPHIE

1. LICHTWITZ A., HIOCO D., PARLIER R., de SEZE S. : Acide citrique et métabolisme calcique. I. Rôle de l'intestin, de l'os et du rein. Presse méd. 69, 5-8 (1961).
2. HARRISON H.E., HARRISON H.C., RAVITCH M.M. : Effects of calcium and parathyroid hormone on citrate levels in body fluids. J. Pharmacol. exp. Ther. 122, 30-35 (1958).
3. HARRISON H.C., HARRISON H.E., PARK E.A. : Vitamin D and citrate metabolism. Amer. J. Physiol. 192, 342-346 (1958).
4. MEISSER B. : Contribution à l'étude des relations entre les métabolismes du calcium et de l'acide citrique. Valeurs de la citratémie dans quelques ostéopathies. Thèse No 2796, Université de Genève, Faculté de Médecine, Genève (1962).
5. HARPER H.A. : Précis de biochimie. Les Presses de l'Université Laval, Québec, Canada (1977).
6. TAYLOR T.G. : The nature of bone citrate. Biochim. Biophys. Acta. 39, 148-149 (1960).
7. REYNOLDS M.D., LEMON H.M., KAPLAN G.A., IDELSON B.A., MUELLER J., DEROW M.A. : Analytical differencies in blood from human bone marrow, artery and vein. Proc. Am. A. Cancer Res. 3, 56-64 (1959).

8. ALWALL N., NILSBY I. : Studien über die Regulation vom Citronensäure gehalt des Blutserum III. Acta med. scand. 116, 322-336 (1944).
9. HERNDON R.F., FREEMAN S. : Renal citric acid utilization in the dog. Amer. J. Physiol. 192, 369-372 (1958).
10. NIETH H., SCHOLLMMEYER P. : Substrate-utilization of the human kidney. Nature 209, 1244-1245 (1966).
11. BARUCH S.B., BURICH R.L., EUN C.K., KING V.F. : Renal metabolism of the citrate. Med. Clin. N. Amer. 59, 569-582 (1975).
12. PELLET M.V., COHEN H., SEIGNER C., REVIAL M.F. : Limitation de la résorption tubulaire de l'acide citrique : l'absence de capacité de transport maximum. C. R. Soc. Biol. (Paris). 164, 1750-1756 (1970).
13. COHN D.V., GRIFFITH F.D. : The influence of parathyroid extract on oxydative and decarboxylative pathways in bone. In : GAILLARD P.J., TALMAGE R.V., BUDY A.M. : The parathyroid glands : ultrastructure , secretion and function. University of Chicago Press, Chicago (1965).
14. NEUMAN W.F., FIRSCHEIN H., CHEN P.S., MULRYAN B.J., DISTEFANO V. : On the mecanism of action of parathormone. J. Amer. Chem. Soc. 78, 3863-3864 (1956).
15. NEUMAN W.F., NEUMAN M.W. : The chemical dynamics of bone mineral. University of Chicago Press, Chicago (1968).

16. FIRSCHEIN H.E., NEUMAN W.F., MARTIN G.R., MULRYAN B.J. : Studies on the mechanism of action of parathyroid hormone. Recent Progr. Hormone Res. 15, 427-454 (1959).
17. NORDIN B.E.C. : The solubility of powdered bone. J. Biol. Chem. 227, 551-564 (1957).
18. NISBET J.A., HELLIWELLS S., NORDIN B.E.C. : Relation of lactic and citric acid metabolism to bone resorption in tissue culture. Clin. Orthop. 70, 220-230 (1970).
19. JONGEBLOED W.L., VAN DEN BERG P.J., ARENDS J. : The dissolution of single crystals of hydroxyapatite in citric and lactic acids. Calcif. Tissue Res. 15, 1-9 (1974).
20. LASKIN D.M., ENGEL M.B. : Relations between the metabolism and structure of bone. Ann. New York Acad. Sc. 85, 421-426 (1960).
21. BORLE A.B., NICHOLS N., NICHOLS G.Jr. : Metabolic studies of bone in vitro. II. The metabolic patterns of accretion and resorption. J. Biol. Chem. 235, 1211-1213 (1960).
22. LEMON H.M., MUELLER J.H., LOONEY J.M., CHASEN W.H., KELMAN M. : Hypercitricemia in human cancer, factors concerned in pathogenesis and treatment. British J. Cancer. 14, 376-396 (1960).
23. LEMON H.M., NASSOUH K. : Hypercitricemia and parathyroid function in advanced cancer. Cancer 14, 934-943 (1961).

24. ZENDER R., DE TORRENTE C., SCHNEIDER U. : Analyse du citrate plasmatique par voie enzymatique sans déprotéinisation. Clin. Chim. Acta. 24, 335 - 340 (1969).
25. FRIDEZ C., BARRAS C., GARCIA B. : Contribution à l'étude des déficiences en vitamine D chez les sujets âgés. Schweiz. med. Wschr. 107, 764-768 (1977).
26. BULLAMORE J.R., GALLAGHER J.C., WILKINSON R., NORDIN B.E.C., MARSHALL D.H. : The effect of age on calcium absorption. Lancet II. 535-537 (1970).
27. STAMP T.C.B., ROUND J.M. : Seasonal changes in human plasma levels of 25 hydroxy-vitamin D. Nature. 247, 563-565 (1974).
28. MARSHALL R.W., COCHRAN M., HODGKINSON A. : Relationships between calcium and oxalic acid intake in the diet and their excretion in the urine of normal and renal-stone-forming subjects. Clin. Sci. 43, 91-99 (1972).

